Profil phénotypique des métastases cérébrales de cancer bronchique prises en charge à l'hôpital Lariboisière entre 2009 et 2014

A Tauziède-Espariat (1), M Polivka (1), L Françoise (2), B Poirot (2), D Pouessel (3), J Lehmann-Che (2), P de Cremoux (2), H Adle-Biassette (1)

(1) Service d’Anatomie et Cytologie Pathologiques, AP-HP Lariboisière, 75010 Paris, France

(2) Unité d’Oncologie Moléculaire, AP-HP Saint-Louis, 75010 Paris, France

(3) Service d'Oncologie Médicale, AP-HP Saint-Louis, 75010 Paris, France.

Introduction : Les cancers bronchopulmonaires (CBPs) représentent la première cause de métastases cérébrales (MCs), dont environ 7% sont découvertes concomitamment au CBP. Objectifs : Notre étude rétrospective a pour but de caractériser 1/ le type histopathologique, 2/ le phénotype immunohistochimique (TTF1, ALK) et moléculaire (KRAS, EGFR, PI3KCA, HER2 et BRAF) des MCs de CBPs. **Méthodes** : Après extraction d'ADN, à partir de coupes adjacentes de tissu fixé, les altérations des gènes KRAS, EGFR, PI3KCA, HER2 et BRAF ont été recherchées par technique HRM puis séquençage direct du produit amplifié et discrimination allélique pour les mutations « hot spots » des gènes KRAS et PI3K. **Résultats** : 76 MCs issues de 76 patients ont été incluses, comprenant 56 hommes et 20 femmes (sex ratio : 2,8) âgés en moyenne de 59,7 ans (36-86 ans). 28/30 patients étaient fumeurs (information non renseignée pour les patients restants). Il existait un antécédent de CBP dans 27/71 cas (38%) avec un délai moyen de survenue de MCs de 3,5 ans (0,1-8,4 ans). Pour les 44 patients restants (62%), le bilan secondaire révélait un CBP. L'analyse histopathologique montrait un adénocarcinome, un carcinome peu différencié et un carcinome épidermoïde dans 65, 7 et 4 cas. Le TTF1 était exprimé dans 51/65 adénocarcinomes et carcinomes peu différenciés. ALK n'était pas exprimé (0/34). L'étude moléculaire rapportait 3 mutations (4,5%) de l'exon 19 du gène EGFR et 1 mutation (1,5%) de l'exon 21 (p.L858R); 18 mutations (22,6%) de l’exon 2 du gène KRAS (9 p.G12C, 4 p.G12V, 2 p.G12D, 1 p.G12A, 1 p.G13C et 1 double mutation p.G12C/G12V); 1 mutation (1,7%) de l’exon 15 du gène BRAF (p.D594A); 1 mutation (1,7%) de l'exon 9 du gène PI3KCA (p.E545K); 0 mutation de l’exon 20 du gène HER2. Elles concernaient des adénocarcinomes et un carcinome peu différencié. **Discussion** : Bien que non considéré comme facteur de risque de survenue de MC dans la littérature, le sexe masculin était prédominant dans notre série. Le taux de CBP méconnu au moment du diagnostic de MC est élevé comparé à la littérature, ce chiffre variant de 10 à 40% selon les séries. L'adénocarcinome est le type histopathologique le plus fréquemment observé dans notre série alors que dans la littérature c'est le carcinome bronchique à petites cellules. Enfin, les MCs montrent un taux moindre d'altérations des gènes KRAS, BRAF, EGFR, PI3KCA et HER2 que les métastases des autres organes. Dans la littérature, les CBPs présentant un réarrangement du gène ALK, non observé dans notre cohorte, métastasent fréquemment au cerveau. **Conclusion** : Les MCs, fréquemment révélatrices de CBP, doivent bénéficier d'une analyse histomoléculaire complète afin de rechercher les biomarqueurs impliqués dans les thérapies ciblées. Nos résultats doivent être comparés aux données histomoléculaires des tumeurs primitives.

Introduction

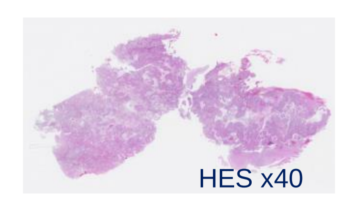
- Cancers bronchopulmonaires (CBPs) = 1ère cause de métastases cérébrales (MCs)
  Nussbaum ES *et al.* Cancer 1996
- 3-10% découvertes concomitamment au CBP
  Yokoi K *et al.* Chest 1999 ; Salbeck R *et al.* Cancer 1990

- **Objectif** : Étude rétrospective avec pour buts :

1. caractériser le type histopathologique des MCs de CBPs
2. caractériser leur phénotype immunohistochimique (TTF1, ALK) et moléculaire (*KRAS*, *EGFR*, *PI3KCA*, *HER2* et *BRAF*)

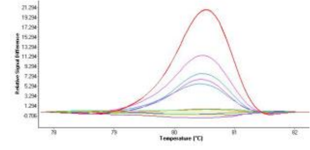
Matériel et méthodes

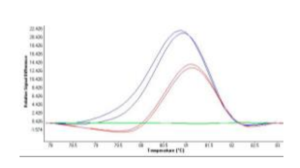
1/ Extraction d'ADN (coupes adjacentes de tissu fixé)


HES x40

2/ Recherche des altérations des gènes :

- *EGFR*, *HER2* et *BRAF* par HRM (High Resolution Melting)
- *KRAS* et *PI3KCA* par discrimination allélique (mutations « hot spots »)



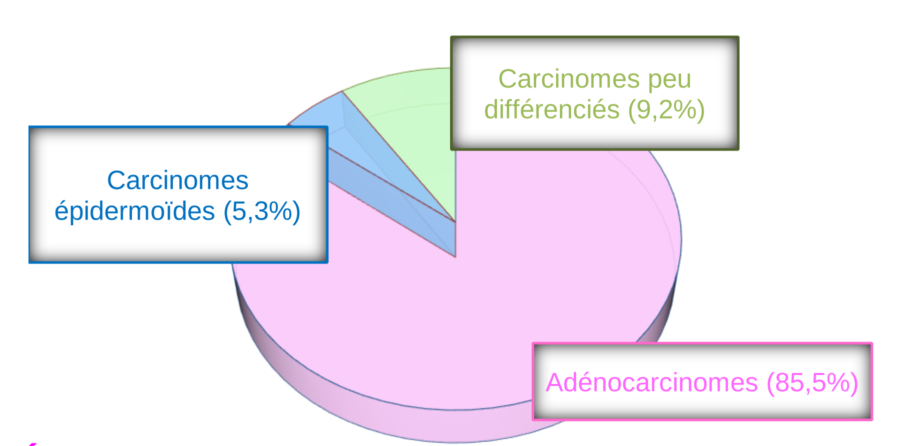


3/ Confirmation par séquençage direct


GTG>GAG V600E

Résultats

TYPES HISTOPATHOLOGIQUES DES MCS



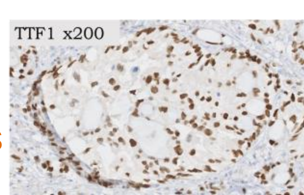
Matériel exploitable en pathologie moléculaire :

- 55 adénocarcinomes
- 6 carcinomes peu différenciés

	KRAS	*BRAF*	*PI3KCA*	*HER2*	*EGFR*
Mutés	**18**	**1**	**1**	0	**5**
Sauvages	37	51	51	45	50
Non informatifs	0	3	3	10	0

Étude immunohistochimique :

- TTF1 exprimé dans :
  - 53/65 adénocarcinomes
  - 4/7 carcinomes peu différenciés
- 0 cas avec expression d'ALK



Détail des mutations (24 adénocarcinomes et 1 carcinome peu différencié) **:**

→ *KRAS* (exon 2) *:* 9 p.G12C, 4 p.G12V, 2 p.G12D, 1 p.G12A, 1 p.G13C et 1 double mutation p.G12C/G12V
→ *BRAF* (exon 15) : 1 p.D594A
→ *PI3KCA* (exon 9) : 1 p.E545K
→ *EGFR* (exon 19) : 3 délétions
→ *EGFR* (exon 21) : 2 p.L858R

Discussion et conclusion

- Sexe masculin prédominant dans notre série ≠ littérature : sexe non facteur de risque de survenue de MC
- Taux de CBP méconnu au moment du diagnostic de MC élevé, chiffre entre 10 et 40% selon les séries
- Adénocarcinome = type histopathologique le plus fréquemment observé
- Taux comparables d'altérations des gènes *KRAS, BRAF, EGFR, PI3KCA* et *HER2* entre MCs et CBPs
- Aucun cas de MCs de CBPS avec réarrangement d'*ALK* ≠ littérature : réarrangements d'*ALK* plus fréquents dans les CBPs avec MCs **Mais** population tabagique très importante dans notre série (93% > 10 PA) [CBPs réarrangés pour *ALK* = patients non/peu tabagiques] **et** hétérogénéité de fréquence de ces réarrangements entre tumeurs primitives et métastases

Références bibliographiques succinctes :
Kim H *et al.* Histopathol 2013
Lantuejoul S *et al*. Eur Respir J. 2015
Imielinski M *et al.* Cell. 2012

Influence de la cellularité tumorale dans la recherche des mutations des cancers du poumon : expérience du centre Paul Papin (Angers).

Dr V. Verrièle, Mr Q. Breton; Dr I. Valo; Dr F. Benallègue, Dr A. Morel; Institut de Cancérologie de l'Ouest, centre Paul Papin, Angers, France.

Introduction : Le cancer du poumon est la 5ème cause de mortalité dans le monde (2012) (1). La recherche de ses principales mutations (EGRF, ALK et KRAS), fait maintenant parti de la pratique courante et est réalisée quotidiennement sur la plateforme de biologie moléculaire du centre Paul Papin (Angers). Nous avons souhaité évaluer nos résultats en fonction de la cellularité des échantillons tumoraux.

Méthodes : Reprise des données de tous les carcinomes non à petites cellules d'origine pulmonaire adressés de janvier 2013 à mars 2014, quelle que soit leur cellularité (1-100%) et le type de prélèvement (biopsie ou résection). Les recherches de mutation sont réalisées par Pyroséquençage, Next Generation sequençing (NGS), analyse de fragment et hybridation in situ (HIS).

Résultats : 573 prélèvements histologiques ont été analysés. 269 cas (46,9%) présentaient une mutation dont : 168 mutations KRAS (29,3%) ; 67 mutations EGFR (11,7%); 21 mutations ALK (3,6%) et 13 mutations autres (BRAF, PI3KCA, HER2) (2,3%). Ces mutations étaient mutuellement exclusives.

Une analyse de ces résultats en fonction de la cellularité tumorale (test du $\chi 2$) montre que le taux d'échec est significativement plus élevé à 30% de cellules tumorales ou moins pour les trois principales mutations ($p = 0,014$ à $0,003$; respectivement).

Conclusion : Idéalement, le pourcentage de cellules tumorales à analyser devrait être supérieur à 30% pour obtenir une réponse fiable. En dessous de ce seuil, un résultat négatif ou douteux peut inciter, en fonction du contexte clinique, à la poursuite des investigations.

Introduction : Le cancer du poumon est la 5ème cause de de mortalité dans le monde (2012) (1). Ces dernières années, des avancées considérables ont été faites dans la compréhension et la prise en charge de ces tumeurs. Plusieurs mutations des cancers du poumon ont été identifiées. Pour certaines d'entre elles, il existe aujourd'hui un traitement ciblé (1). Les trois gènes mutés principaux dans le poumon sont l'Epithelial growth factor receptor (EGFR), l'Anaplasic lymphoma kinase (ALK) et K-rat sarcoma (KRAS) (1). Avec le développement des thérapies ciblées, la recherche des mutations de ALK et EGFR font aujourd'hui partie intégrante de la prise en charge des adénocarcinomes du poumon (1). Mise en place depuis 2006, la plateforme de biologie moléculaire commune au CHU d'Angers et à l'institut de cancérologie de l'Ouest assure sur le site Paul Papin la recherche de mutation dans les cancers d'origine pulmonaire pour les patients angevins et de la région. Les prélèvements que nous traitons présentent une cellularité tumorale variable et souvent faible. Cependant, compte tenu des enjeux pour le patient, il a été décidé de réaliser la technique dans tous les cas où les cellules tumorales étaient détectables. Lorsque la cellularité est inférieure à 30%, les résultats sont rendus sous réserve de la faible quantité de matériel tumoral disponible. Nous avons souhaité évaluer cette pratique au regard des résultats obtenus.

Matériel et Méthodes :

Recueil : Les données ont été collectées à partir des cas traités en routine et dont les caractéristiques ont été saisies de façon prospective pour chaque dossier sur une fiche de traçabilité requetable développée sous Infopath® via le système de gestion de laboratoire Diamic (Infologic).

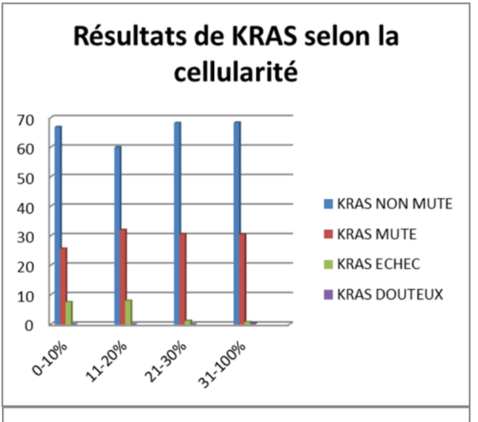
Patients : ont été analysés tous les cas de carcinomes non à petites cellules d'origine pulmonaire sur biopsie ou pièce opératoire adressés pour recherche de mutation en 2013 et durant le premier trimestre 2014, et ce, quelle que soit leur cellularité tumorale (1-100%)

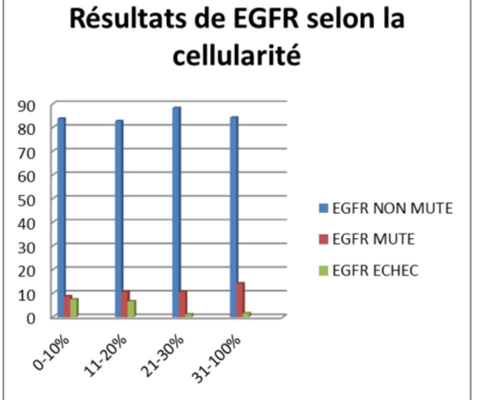
Technique de biologie moléculaire : Les prélèvements adressés dans notre centre sont analysés par Pyroséquençage, Next Generation sequençing (NGS) et par analyse de fragment.

La recherche de la translocation EML4-ALK a été réalisée par immunohistochimie couplée éventuellement à une hybridation in situ (HIS).

	0-10%		11-20%		21-30%		31-100%	
KRAS NON MUTE	107	66,88%	45	60,00%	58	68,24%	173	68,65%
KRAS MUTE	41	25,63%	24	32,00%	26	30,59%	77	30,56%
KRAS ECHEC	12	7,50%	6	8,00%	1	1,18%	2	0,79%
Total général	160	100,00%	75	100,00%	85	100,00%	252	100,00%

	0-10%		11-20%		21-30%		31-100%	
EGFR NON MUTE	134	83,75%	62	82,67%	75	88,24%	213	84,19%
EGFR MUTE	14	8,75%	8	10,67%	9	10,59%	36	14,23%
EGFR ECHEC	12	7,50%	5	6,67%	1	1,18%	4	1,58%
Total général	160	100,00%	75	100,00%	85	100,00%	253	100,00%





Résultats généraux : 573 dossiers de prélèvements histologiques ont été traités durant cette période.

Une mutation a été retrouvée dans 269 cas (46,9%) dont :

- 168 mutations de KRAS (29,3%)
- 67 mutations d'EGFR (11,7%)
- 21 mutations d'ALK (3,6%)
- 13 mutations autres (BRAF, PI3KCA, HER2) (2,3%)

Toutes ces mutations étaient mutuellement exclusives.

Les résultats obtenus pour les deux mutations les plus fréquentes, KRAS e tumorale (tableaux ci contre)

Statistiques :

La comparaison des résultats en fonction de la cellularité (test du χ^2), montre que le taux d'échec est significativement plus élevé si la cellularité est inférieure ou égale à 30%. Pour la mutation EGFR, le nombre de cas mutés est également significativement inférieur si la cellularité est inférieure ou égale à 30% (résultats significatifs en gras sur le tableau)

Comparaison des résultats obtenus en fonction de la cellularité

	% cellule 0-30	% cellule 30-100	p
EGFR			0,014
ECHEC	**18 (5,6%)**	4 (1,6%)	
MUTE	**31 (9,7%)**	36 (14,2%)	
NON MUTE	271 (84,7%)	213 (84,2%)	
BRAF			0,002
ECHEC	**19 (5,9%)**	2 (0,8%)	
MUTE	3 (0,9%)	2 (0,8%)	
NON MUTE	298 (93,2%)	249 (98,4%)	
KRAS			0,003
ECHEC	**19 (6%)**	2 (0,8%)	
MUTE	91 (28,4%)	77 (30,4%)	
NON MUTE	210 (65,6%)	173 (68,4%)	
PI3K			0,002
ECHEC	**25 (7,8%)**	5 (2%)	
MUTE	0	1 (0,4%)	
NON MUTE	295 (92,2%)	247 (97,6%)	

Discussion :

Les taux de mutations globaux obtenus dans notre centre sont similaires à ceux de la littérature pour KRAS mais un peu plus faible pour EGFR. L'analyse des données montre un taux d'échec de la technique plus important pour les tumeurs ayant 20% de cellules tumorales ou moins. Le taux de mutation pour EGFR et KRAS sont légèrement plus faibles dans les cellularités inférieures ou égales à 30%. Au-delà de 30%, ces taux rejoignent les chiffres de la littérature. Même si les données sont rares, d'autres auteurs ont rapporté une expérience similaire, confortant cette attitude (2-3). Idéalement, le pourcentage de cellules tumorales à analyser devrait être supérieur à 30% pour obtenir une réponse fiable. En dessous de ce seuil, la recherche de mutation pour EGFR et KRAS dans les adénocarcinomes non à petites cellules du poumon ne nous parait pas devoir être contre-indiquée mais elle peut conduire, en cas de résultats négatif ou douteux, à la poursuite des investigations : renouvellement du test si d'autres sources de matériel biologique sont disponibles ou nouveau prélèvement si la clinique est évocatrice.

Bibliographie :

(1) Lindeman NI1, Cagle PT, Beasley MB, Chitale DA, Dacic S, Giaccone G, Jenkins RB, Kwiatkowski DJ, Saldivar JS, Squire J, Thunnissen E, Ladanyi M, College of American Pathologists International Association for the Study of Lung Cancer and Association for Molecular Pathology. Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EGFR and ALK tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology.J Mol Diagn. 2013 Jul;15(4):415-53.

(2) Leary AF1, Castro DG, Nicholson AG, Ashley S, Wotherspoon A, O'Brien ME, Popat S.Establishing an EGFR mutation screening service for non-small cell lung cancer - sample quality criteria and candidate histological predictors.Eur J Cancer. 2012 Jan;48(1):61-7.

(3) Hlinkova K1, Babal P, Berzinec P, Majer I, Mikle-Barathova Z, Piackova B, Ilencikova D. Evaluation of 2-year experience with EGFR mutation analysis of small diagnostic samples.Diagn Mol Pathol. 2013 Jun;22(2):70-5.

Tumeur broncho-pulmonaire de type fœtal chez l'adulte : à propos de 3 cas et revue de la littérature

B Marquet(1), W El Alami-Thomas(1), D Zachar(1), S Sandu(2), G Delepine(2), P Birembaut(3), M Patey(1)
(1)Laboratoire d'Anatomie Pathologique, CHU de Reims, France ; (2) Service de Chirurgie Cardio-Thoracique, CHU de Reims, France ; (3) Laboratoire d'Histologie-Cytologie, CHU de Reims, France.

Introduction : les tumeurs pulmonaires ressemblant au poumon fœtal sont rares (0,5 % des tumeurs pulmonaires) et constituent un groupe hétérogène qui va de l'adénocarcinome fœtal décrit par Kradin en 1982 au pneumoblastome décrit en 1952 par Barnard.

Objectifs : nous rapportons 3 observations d'adénocarcinome fœtal dont une forme bien différenciée ou de bas grade (AFBG), une forme peu différenciée ou de haut grade (AFHG) et un pneumoblastome afin d'en préciser les caractéristiques anatomocliniques, immunohistochimiques et moléculaires.

Cas anatomocliniques :

1) Homme de 57 ans, fumeur, asymptomatique; découverte fortuite d'une tumeur périphérique de 4 cm du lobe supérieur droit (LSD) opéré et chimiothérapé. AFBG pur avec morules, nécrose punctiforme et bourgeon endobronchique, infiltrant la plèvre viscérale (pT2a N0 M0). TTF1 et ß-caténine nucléocytoplasmique positifs; ChromogranineA et Synaptophysine négatives. Remaniements EML4-ALK+. Absence de récidive à 2 ans.

2) Homme de 49 ans, fumeur actif, asymptomatique ; découverte radiologique d'une tumeur périphérique de 2,5cm du LSD traitée par lobectomie et curage ganglionnaire. AFBG sans morule TTF1+, CDX2+ avec bourgeon endobronchique, associé à un contingent peu différencié solide riche en atypies de haut grade nécrosé, NCAM (CD56)+, alpha-foetoprotéine+, Glypican3 +, ß-caténine membranaire (stade pT1a N0 M0). Recul de 1 an sans récidive.

3) Femme de 43 ans, fumeuse; découverte fortuite d'une tumeur de 11 cm du LSD traitée par pneumonectomie et curage ganglionnaire. Pneumoblastome biphasique avec contingent fœtal et stroma blastémateux sans contingent hétérologue, nécrosé avec bourgeon endobronchique (pT3 N0 M1b). TTF1-, CDX2-, alpha-foetoprotéine-, ß-caténine+, NCAM+, p53+, Vimentine+. Décédée à 3 mois post-opératoire de métastases surrénaliennes. Absence de mutation KRAS et EGFR.

Discussion : l'adénocarcinome fœtal bien différencié synonyme de bas grade est considéré dans l'OMS comme une variante de bon pronostic, asymptomatique dans 2/3 des cas. Typiquement décrit chez la femme, il existe chez l'homme et est associé à une expression nucléaire et cytoplasmique de la ß-caténine.

Le caractère hétérogène de l'adénocarcinome fœtal de haut grade décrit par Nakatani puis Morita et al 2013 est confirmé dans notre cas par un contingent peu différencié exprimant NCAM, alpha-foetoprotéine, Glypican 3 avec ß-caténine membranaire.

Le pneumoblastome biphasique doit être distingué morphologiquement de l'adénocarcinome fœtal de haut grade notamment grâce à l'expression de β-caténine, sa survie étant de 16 % à 5 ans et de 8 % à 10 ans.

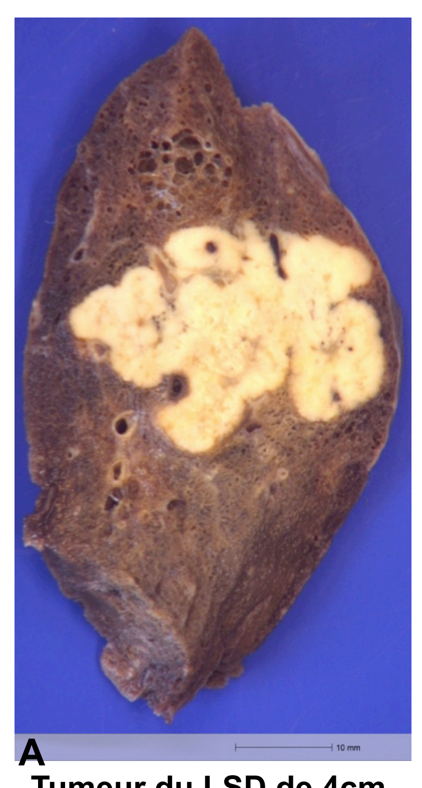
Conclusion : il s'agit de tumeurs pulmonaires de type fœtal chez 3 adultes fumeurs de découverte fortuite, périphériques avec composante endobronchique histologique atteignant préférentiellement le LSD, bien individualisées morphologiquement en ce qui concerne l'AFBG et le pneumoblastome et de diagnostic plus difficile pour l'AFHG.

Introduction :

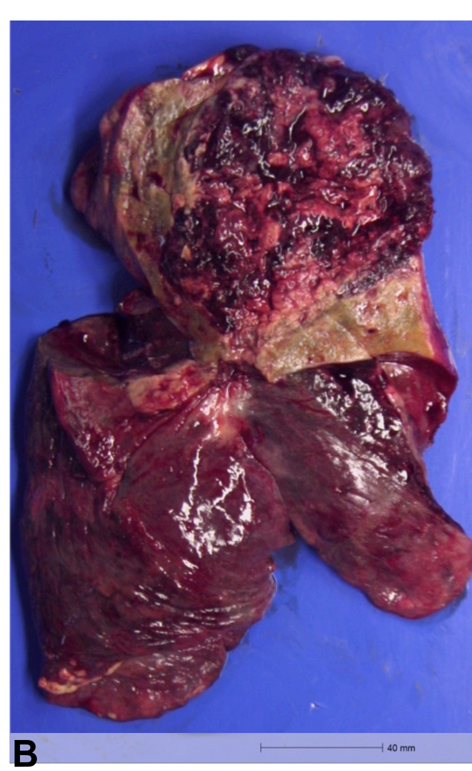
Les tumeurs pulmonaires ressemblant au poumon fœtal sont rares (0,5 % des tumeurs pulmonaires) et constituent un groupe hétérogène qui va de l'adénocarcinome fœtal au pneumoblastome (PB). Nous rapportons 3 cas de tumeurs broncho-pulmonaires de type fœtal de l'adulte observés sur 2 ans, avec étude morphologique, immunohistochimique et moléculaire.

Matériel et méthodes:

	Cas 1	Cas 2	Cas 3
Sexe	Homme	Homme	Femme
Age	57 ans	49 ans	43 ans
Tabagisme	Oui	Oui	Oui
Symptômes	Aucun	Aucun	Aucun
Traitement	Lobectomie +curage ganglionnaire chimiothérapie	Lobectomie + curage ganglionnaire	Pneumonecto-mie + curage ganglionnaire
Stade	pT2aN0M0	pT1aN0M0	pT3N0M1b
Métastases	-	-	Surrénales
Evolution	Pas de récidive à 2 ans	Pas de récidive à 1 an	Décès à 3 mois
Macroscopie	**A**, après fixation	Nodule hétérogène de 2,5cm sous pleural du LSD	**B**, état frais



A
Tumeur du LSD de 4cm, blanchâtre, polycyclique



B
Tumeur du LSD de 11cm nécrotico-hémorragique, avec atélectasie péri-tumorale

Microscopie optique: fixation dans le formol stabilisé à 10% Diapath, inclusion en paraffine, coloration HPS.

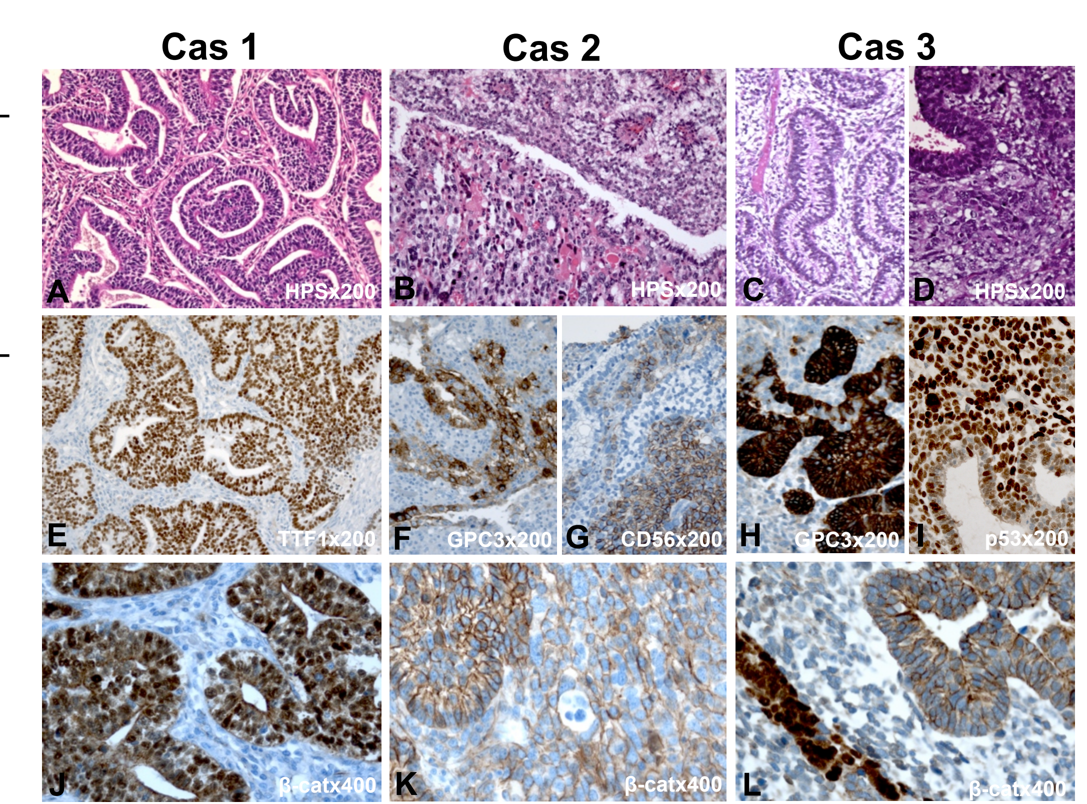
Etude immunohistochimique: sur coupe en paraffine selon la technique Ventana Benchmark XT avec les anticorps suivants: Chromogranine A (ChrA), Synaptophysine (Syn) (Clone SP11), CD56 (Clone 1B6), Glypican 3 (GPC3) (Clone 1G12), α-foetoprotéine (AFP), p53 (Clone DO-7), TTF1 (Clone 8G7G3/1), β-caténine monoclonale (Clone 5H10), CDX2 (Clone EPR2764Y).

Etude moléculaire: à partir de tissu fixé, recherche de mutations des gènes : *EGFR*(exons 18-21) *et HER2*(exon 20) par séquençage automatique/ABI; *KRAS*(exon 2), *BRAF*(exon 15-V600E) et *PIK3CA*(exon 9-20) par PCR/sonde Taqman; et d' un réarrangement du gène *ALK* par FISH.

Résultats :

	Cas 1	Cas 2		Cas 3	
Histologie	**AFBG (A)**	**AFHG (B)**		**PB (C,D)**	
Contingent	**Bien ≠**	**Bien ≠** 50 %	**Peu ≠** 50 %	**CE** 40 %	**CM** 60 %
Nécrose	focale	++		++	
Atypies	+/-	+	+++	0 à +++	
Morules	oui	0		0	
BE	oui	oui		oui	
ChrA	rares ¢	-	-	-	-
Syn	qq ¢	-	CNE +	focal	-
CD56	-	-	CNE ++	+	+
GPC3	-	CH +	-	+++	rares ¢
AFP	-	CH +	CH +	-	-
CDX2	-	+	focal	qq ¢	-
p53	-	-	-	+	+++
TTF1	+++	++	+	-	-
β-cat	**N/C ++**	**MB +**	**MB +**	**MB +**	**N focal**

≠: différencié; CE: contingent épithélial; CM: contingent mésenchymateux; BE: bourgeon endobronchique; CNE: contingent neuroendocrine ; CH: contingent hépatoïde; Mb: membranaire; N/C: nucléo-cytoplasmique. ¢: cellules.



Etude moléculaire: Cas 1 : présence d'un gène de fusion EML4-ALK: inv(2)(p21p23), sans autre mutation des gènes étudiés. **Cas 2 et 3 :** absence de mutation *EGFR*, *KRAS*, *BRAF*, *HER2*, *PIK3CA et ALK.*

Discussion

Cas 1: AFBG chez un homme fumeur, associé à une **expression N/C de la ß-caténine** dans l'ensemble du contingent épithélial ainsi que les morules[1,2] (**J**). Présence d'un remaniement EML4-ALK, non décrit dans les AFBG.

Cas 2: AFHG caractérisé par un contingent bien différencié avec atypies sans morule (TTF1+ CDX2+), et peu différencié : de type neuroendocrine (Syn+ , CD56+) (**G**)[3,4],et un contingent hépatoide mineur GPC3+ (**F**). **Expression membranaire de la β-caténine**[3] dans les deux contingents (**K**). Aucune des principales mutations (*EGFR*, *KRAS*) associées aux adénocarcinomes pulmonaires conventionnels n'a été trouvée.

Cas 3: **PB** avec contingent mésenchymateux prédominant et sans morule, montre une **expression membranaire de la β-caténine** dans le contingent épithélial (**L**), contrairement aux PB avec morules (PBM)[2,5]. Un marquage nucléaire focal du contingent mésenchymateux est observé (**L**). P53 > 70% (**I**) est en faveur d'une **mutation de p53**. Aucune mutation (*EGFR*, *KRAS*, *BRAF*, *HER2*, *PIK3CA*) trouvée.

Conclusion :

L'expression N/C de la β-caténine dans l' AFBG est associée à une mutation de la *β-caténine*, également retrouvée dans le PBM dans la série de Sékine[2], suggérant une histogénèse commune à ces 2 entités et apparaît importante à rechercher dans ce type de tumeurs.

Références : 1. Nakatani Y, et al. Mod Pathol. 2002;15:617-624 ; 2. Sekine S, et al. J Pathol. 2003;200:214-221 ; 3. Morita S, et al. Am J Surg Pathol. 2013;37:924-932 ; 4. Suzuki M, et al. Histopathology 2015. epub Apr 8 ; 5. Nakatani Y, et al. Am J Surg Pathol 2004, 28: 921-927.

Evaluation histologique et moléculaire des carcinomes pulmonaires multiples non à petites cellules : étude rétrospective de 51 cas

M-R Ghigna (1), S Chartier (1) L Lacroix (2), B Besse (2), P Dorfmuller (1), É Fadel (1), V. Thomas de Montpréville (1).

(1) Institut d'Oncologie Thoracique, Hôpital Marie Lannelongue, 133 avenue de la Résistance, 92350, Le Plessis Robinson, France.
(2) Institut d'Oncologie Thoracique, Gustave Roussy Cancer Campus Grand Paris, 114 rue Edouard Vaillant, 94805, Villejuif, France.

Résumé

Dans la prise en charge des carcinomes pulmonaires non à petites cellules le type histologique et le stade constituent deux aspects fondamentaux. Dans le cas de tumeurs pulmonaires multiples (synchrones ou métachrones) la distinction entre tumeurs pulmonaires primitives multiples ou métastases intra pulmonaires acquière une grande importance clinique, avec impact potentiel sur les décisions thérapeutiques. Nous avons étudiés de façon rétrospective les cas de 53 patients avec tumeurs pulmonaires multiples synchrones et métachrones, en comparant la présentation clinique, l'histologie et le profil moléculaire de chaque tumeur, à fin d'identifier les tumeurs pulmonaires primitives et les métastases intra-pulmonaires. Au total 96 tumeurs pulmonaires ont été ainsi caractérisées. En détail 20 patients présentaient des tumeurs métachrones et 33 patients des tumeurs synchrones. 34 patients présentaient le même type histologique (dont adénocarcinome diagnostiqué dans 29 patients, carcinome à grandes cellules dans 3 patients et carcinome epidermoide dans 2 patients) sur tous les nodules pulmonaires, contre 19 patients avec type histologique différent. Dans 11 patients les nodules tumoraux étaient controlatéraux, tandis que 42 patients présentaient des nodules pulmonaires unilatéraux. En évaluant de façon détaillée l'histologie et l'analyse moléculaire 24 patients ont été diagnostiquées avec tumeurs pulmonaires multiples, 16 patients ont été diagnostiqués comme ayant une tumeur avec métastase pulmonaire et dans 13 patients l'analyse histologique et l'étude moléculaire n'ont pas permis de différencier des tumeurs pulmonaires multiples de métastases intra pulmonaires. En conclusion l'association d'une bonne confrontation anatomo-clinique et l'analyse moléculaire sur échantillon tissulaire adéquate constitue un outil indispensable pour pouvoir correctement encadrer les tumeurs primitives pulmonaires multiples, permettant une prise en charge plus adaptée.

Introduction:

Le type histologique et le stade constituent deux aspects fondamentaux de la prise en charge des carcinomes pulmonaires non à petites cellules. Dans le cas de tumeurs pulmonaires multiples (synchrones ou métachrones), il peut être crucial, pour la décision thérapeutique, de faire la distinction entre tumeurs pulmonaires primitives multiples et métastases ou récidives intra pulmonaires de la même tumeur.

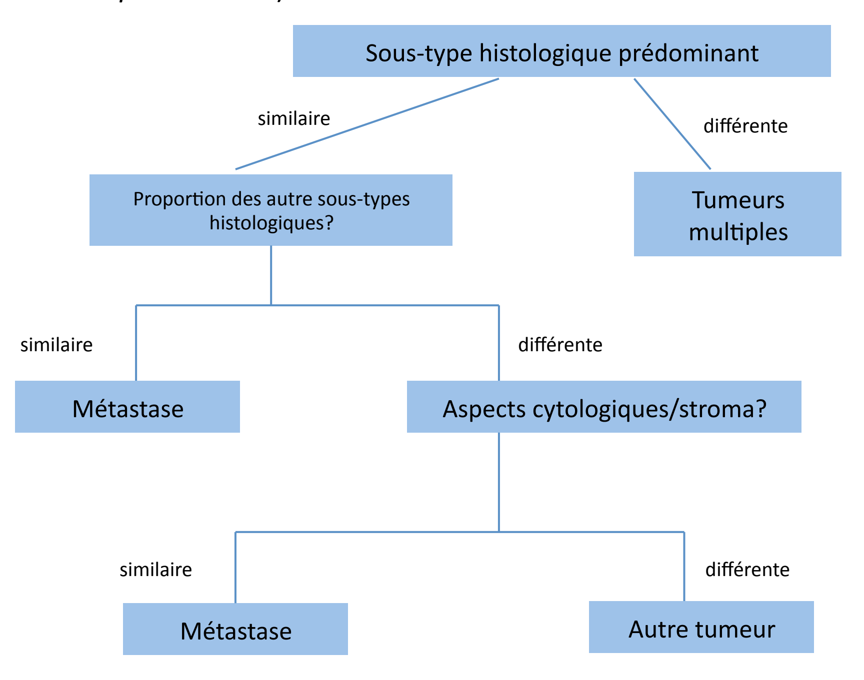
Rationnel: Est-il possible de différencier d'une part les secondes tumeurs pulmonaires primitives et d'autre part les récidives de métastases intra-pulmonaires?

Matériel et méthodes:

Nous avons inclus dans cette étude les patients qui ont eu plusieurs diagnostic de tumeur pulmonaire entre février 2011 et janvier 2015. Les données cliniques ont été récollettes pour tous les patients à partir d'une base de données informatisée.

Analyse histologique: Le siège, le nombre, ainsi que la taille de chaque tumeurs a été récupéré à partir des compte-rendu d'anatomie pathologique. Les lames des tumeurs pulmonaires ont ensuite été revues par trois pathologistes expérimentés; les tumeurs pulmonaires ont été classées selon la classification histologique OMS 2015. De plus nous avons évalué de façon semi quantitative le pourcentage relatif de chaque sous-type histologique (acineux, papillaire, lépidique, solide et micropapillaire). Les caractéristiques cytologiques, ainsi que les aspects du stroma, la présence d'inflammation ou la nécrose ont été prises en compte dans l'évaluation histologique. Ainsi les tumeur synchrones présentant des aspects histologiques similaires ont été considérées comme métastase, tandis que ceux présentant des caractéristiques différentes ont été considérées comme tumeurs multiples différentes.

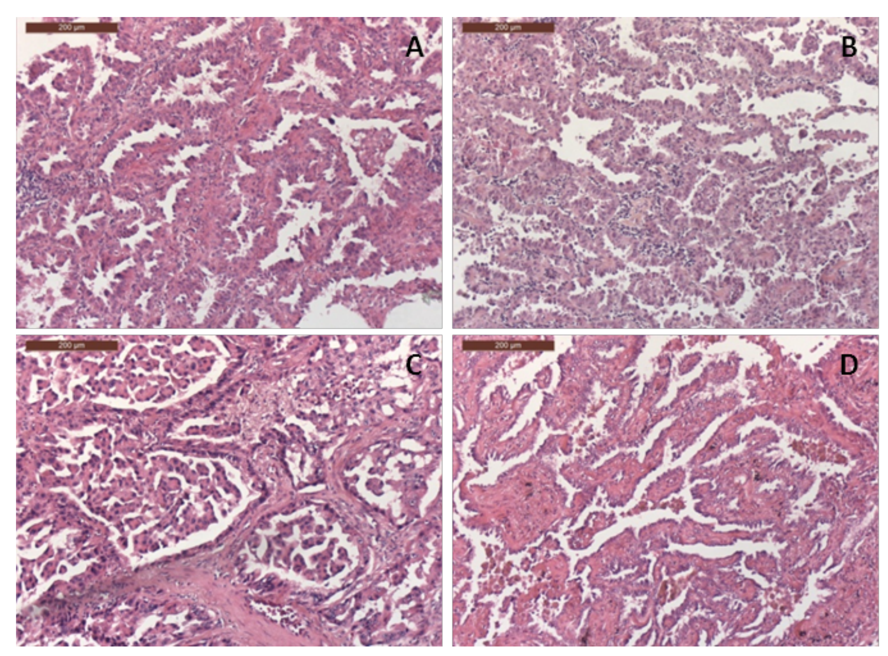
Algorithme utilisé pour l'évaluation morphologique des adénocarcinome multiples (Girard et al.*Am j surg pathol* 2009)



Analyse moléculaire: une analyse mutationnelle par séquençage direct (48 capillary DNA analyzer 3730) a été effectuée sur 5 gènes d'intérêt et notamment *EGFR*, *KRAS*, *BRAF*, *PIK3CA* et *HER2* sur l'ensemble des tumeurs inclus dans cette étude. L'altération du gène ALK a été effectuée dans un premier temps par immunohistochimie et en cas de surexpression ce résultat a été validé par technique FISH. L'analyse moléculaire a été pratiquée sur matériel tumoral inclus en paraffine, contenant un pourcentage minimal de 30% de cellules tumorales.

Résultats:

Un total de 96 tumeurs pulmonaires a été analysé chez 53 patients. 20 patients présentaient des tumeurs métachrones et 33 patients des tumeurs synchrones. Chez 11 patients les tumeurs étaient bilatérales, tandis que 42 patients présentaient des lésions pulmonaires unilatérales. 34 patients présentaient des lésions pulmonaires ayant toutes le même type histologique : adénocarcinome chez 29 patients, carcinome à grandes cellules chez 3 patients et carcinome épidermoïde chez 2 patients. 19 patients présentaient des tumeurs de type histologique différent. En combinant l'ensemble des données, 24 patients ont été diagnostiqués avec tumeurs pulmonaires multiples, 16 patients ont été diagnostiqués comme ayant une tumeur avec métastase pulmonaire et chez 13 patients l'analyse histologique et l'étude moléculaire n'ont pas permis de différencier des tumeurs pulmonaires multiples de métastases intra pulmonaires.



A) et **B)** adénocarcinomes pulmonaires métachrones (**A** tumeur LIG et **B** tumeur LIG) présentant le même aspect morphologique; l'analyse mutationnelle avait démontrée une mutation *EGFR* (del exon 19) dans les deux tumeurs; **C**) et **D**) adénocarcinomes pulmonaires synchrones (**C** tumeur LIG et **D** tumeur LID) présentant une architecture différente ; l'analyse mutationnelle avait mie en évidence une mutation *KRAS* G12D dans la tumeur représentée dans le figure **C**.

Discussion et Conclusion:

L'adénocarcinome est devenu le type histologique plus fréquemment diagnostiqué parmi les tumeurs primitives pulmonaires non à petites cellules. D'un point de vue purement histologique l'adénocarcinome pulmonaire comporte une importante diversité architecturale que différentes études récentes ont mise en relation avec la présence d'altérations moléculaires spécifiques. L'évaluation rigoureuse et la comparaison de l'histologie de tumeurs pulmonaires multiples constitue une étape importante du processus diagnostique qui cependant nécessite d'être complété sur le plan moléculaire. L'association d'une bonne confrontation anatomo-clinique et l'analyse moléculaire sur échantillon tissulaire adéquate constitue un outil indispensable pour pouvoir correctement caractériser les tumeurs primitives pulmonaires multiples, permettant une prise en charge adaptée.

Références:

- Girard N et al. *Clin Cancer Res. 2009;15:5184-5190*
- Nakano H et al. *Clin Lung Cancer.* 2007;562-564
- Riquet M et al. *Ann Thorac Surg.* 2008;86:921-926

Rapport d'un cas et brève revue de la littérature: la fibroélastose pleuro-parenchymateuse idiopathique, une entité mal diagnostiquée et méconnue

R. Dehon (1), V. Lacroix (2), A-S Claes (2), D. Hoton (1)



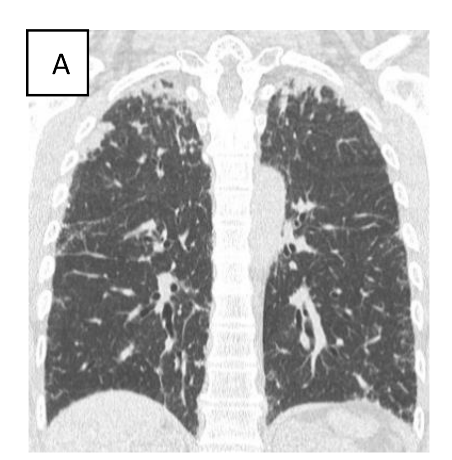
(1) Service d'anatomie pathologique, Cliniques universitaires Saint-Luc, UCL
(2) Service de pathologie thoracique, Cliniques universitaires Saint-Luc, UCL
Juin 2015
Contact : romain.dehon@uclouvain.be

Introduction

- La fibroélastose pleuro-parenchymateuse idiopathique (FEPP) a récemment été reconnue comme faisant partie des pneumonies interstitielles idiopathiques.
- Cette entité a été décrite pour la première fois sous ce nom en 2004 par Frankel.
- Rare et méconnue , elle est vraisemblablement sous-diagnostiquée.
- Elle se caractérise par un épaississement élastosique sous-pleural et pulmonaire prédominant aux sommets.
- Le pronostique est variable, souvent sévère.
- Il n'existe pas de traitement spécifique.

Méthode

- Nous rapportons le cas d'une patiente, âgée de 44 ans, non fumeuse.
- Nous constatons dans les antécédents une leucémie myéloïde aigue pour laquelle elle a bénéficié une allo-greffe de moelle osseuse. Celle-ci a été compliquée par une maladie du greffon contre l'hôte s'exprimant par des atteintes dermatologiques puis pulmonaires.
- La patiente nous est adressée pour une majoration de dyspnée et une toux apparue depuis quatre jours. L'auscultation des poumons révèlent des sibilances expiratoires diffuses et des râles crépitants aux bases.
- Les images scanographiques témoignent d'un épaississement pleural et d'une densification parenchymateuse au niveau des deux sommets pulmonaires ainsi que dans les régions sous-pleurales.



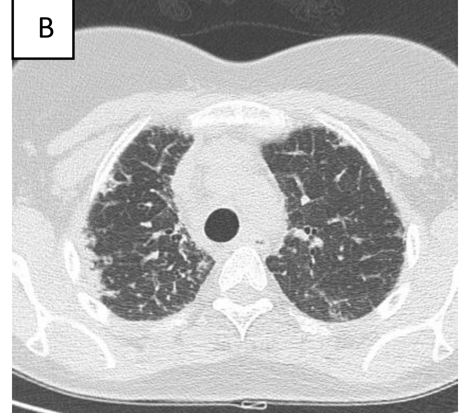


Figure 1 – Scanner thoracique.
A) épaississements pleuraux irréguliers au niveau des deux sommets pulmonaires, coupe coronale;
B) épaississements fibreux sous-pleuraux caractérisés par des modifications fibrotiques, coupe transversale.

Résultats

- Les prélèvements chirurgicaux des sommets et des bases pulmonaires révèlent un épaississement pleural constitué de tissu fibreux, entremêlé à de très nombreuses structures dysélastosiques ondulées et réfringentes en lumière polarisée.
- Les lésions sont de localisation sous-pleurale et s'étendent localement le long des septa alvéolaires au sein du parenchyme pulmonaire distal.
- L'infiltrat inflammatoire est composé de lymphocytes, de plasmocytes et de quelques polynucléaires éosinophiles.

- La coloration de Miller démontre la présence d'un matériel irrégulier et amorphe constitué de fibres élastosiques en excès (figure 2B).
- Le trichrome bleu de Masson met en évidence des dépôts de collagène de type I en proportion moindre par rapport au matériel élastosique (figure 2C).

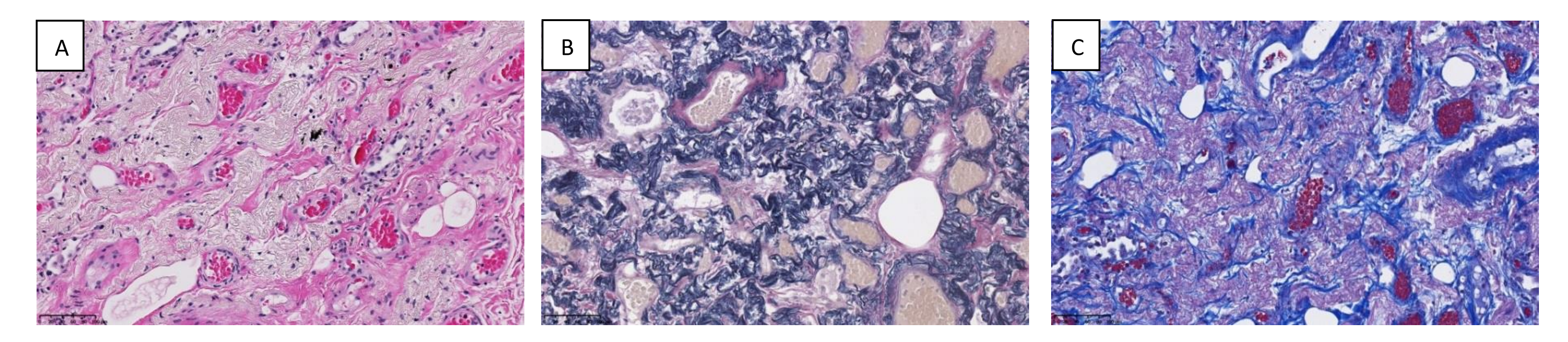


Figure 2. A) tissu fibreux entre-mêlé à de très nombreuses structures disélastosiques ondulées, coloration hémalun éosine ;
B) mise en évidence du matériel élastosique en excès, coloration de Miller ;
C) mise en évidence des dépôts de collagène en quantité modérée, coloration trichrome bleu.

Discussion

Critères pathologiques décrits par Frankel, au niveau des sommets pulmonaires:

1. Fibrose intense de la plèvre viscérale.
2. Fibroélastose sous-pleurale.
3. Absence d'atteinte du parenchyme pulmonaire à distance de la plèvre.
4. Infiltrat lymphoplasmocytaire modéré et épars.
5. Présence de quelques foyers fibroblastiques.

Divergences:

- ➢ Enomoto *et al*[2] a constaté la présence d'élastose au niveau des bases pulmonaires, bien qu'en proportion moindre.
- ➢ Plusieurs auteurs font état que le processus ne serait pas limité aux lobes supérieurs[3,4].

Mécanismes physiopathologiques

- Ils ne sont pas encore clairement établis.
- Une association avec les transplantations de moelle osseuse a été mise en évidence. Une origine auto-immune est possible[5].
- Des infections récurrentes joueraient un rôle dans la pathogénèse[3].
- Un facteur génétique a été rapporté[1].

Diagnostics différentiels

Pneumopathie interstitielle usuelle (UIP)	Evolution temporelle hétérogène vers un poumon en « nid d'abeille » Dépôts de fibres élastiques deux fois moins abondants au niveau des sommets
Apical cap	Images histologiques similaires Association fréquente avec des plaques pleurales sclérotiques et une atélectasie alvéolaire étendue Fibrose sous-pleurale moins étendue Pathologie asymptomatique
Pneumopathie interstitielle non spécifique (NSIP)	Pas de composante fibroélastosique

Approche multidisciplinaire

- La rareté de la maladie rend le diagnostic difficile.
- Cette approche ne peut être menée à bien qu'au sein de centres de référence de pathologie pulmonaire interstitielle

Conclusion

Un épaississement élastosique sous-pleural et pulmonaire, prédominant au sommet, doit attirer l'attention vers ce diagnostic. Une approche multidisciplinaire est cruciale pour identifier cette entité. Des études plus larges sont nécessaires pour préciser ses caractéristiques histologiques, pour mieux comprendre les mécanismes sous-jacents et pour mettre au point des traitements spécifiques.

[1] Frankel SK, Cool CD, Lynch DA, *et al*. Idiopathic pleuroparenchymal fibroelastosis: description of a novel clinicopathologic entity. *Chest* 2004; 126: 2007–2013.
[2] Enomoto N, Kusagaya H, Oyama Y, *et al*. Quantitative analysis of lung elastic fibers in idiopathic pleuroparenchymal fibroelastosis (IPPFE). *BMC Pulm Med* 2014; 14: 91.
[3] Reddy TL, Tominaga M, Hansell DM, *et al*. Pleuroparenchymal fibroelastosis: a spectrum of histopathological and imaging phenotypes. *European Respiratory Journal* 2012; 40: 377–385.
[4] Rosenbaum JN, Butt YM, Johnson KA *et al*. Pleuroparenchymal fibroelastosis: a pattern of chronic lung injury. *Human pathology* 2015; 46: 137-146
[5] Von der Thüsen JH, Hansell DM, Tominaga M, *et al*. Pleuroparenchymal fibroelastosis in patients with pulmonary disease secondary to bone marrow transplantation. *Modern Pathology* 2011; 24: 1633–1639.

Mastocytoses sytémiques : biopsies cutanées, évaluation par la pathologie digitale











R Mitri (1)(2)(6), S Barete (3), S Fraitag (4), E Da Maia (1)(6), F Lepelletier (1), G Le Naour (5)(6), V Looten(6), F Capron (1)(6)

(1) Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques , (2) Fondation AVEC 47-83 boulevard de l'Hôpital, 75013 Paris France. (3) Unité Fonctionnelle de Dermatologie, pôle 3i, centre de référence sur les mastocytoses, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière,47-83 boulevard de l'Hôpital, 75013 Paris France .(4) Hôpital Necker-Enfants Malades, Service de Pathologie 149 rue de Sèvres 75015 Paris France.(5) Université Pierre et Marie Curie, 4 Place Jussieu, 75005 Paris France (6) Unité d'Imagerie et de Modélisation en Anatomie Pathologiques, Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques 47-83 boulevard de l'Hôpital, 75013 Paris France.

Résumé

Les mastocytoses sont caractérisées par l'accumulation de mastocytes notamment dans la peau et la moelle osseuse. On distingue les formes cutanées pures (90%) et les formes systémiques (10%).

Les mastocytes sont observés dans la peau normale (au nombre de 77/mm^2 en régions proximales jusqu'à 108,2/mm^2 en régions distales) autour des vaisseaux du derme superficiel, des follicules pileux et des nerfs. Les mastocytes sont les seules cellules du derme exprimant le c-kit ou CD117. Le diagnostic de mastocytose est anatomo-clinique.

L'objectif est d'élaborer une quantification, une évaluation morphologique qualitative de lames numérisées sur tablette et d'étudier la variabilité inter-observateur ainsi que la performance diagnostique. 65 cas correspondants à 72 biopsies, en site proximal, de cas de diagnostic clinique établi et 43 cas témoins, ont été colorés à l'HES et marqués au CD117, puis numérisés. La visualisation et le comptage ont été réalisés en deux temps par deux médecins à plus de trois semaines d'intervalle. Les cas témoins ont été vus par un seul pathologiste. L'évaluation qualitative morphologique a été effectuée par les deux observateurs avec un template : morphologie cellulaire (arrondie et fusiforme), immunomarquage (membranaire et cytoplasmique), fibrose (absente, faible+, modérée ++ et sévère+++), éosinophiles, augmentation et dilatation des capillaires du derme superficiel.

La variabilité inter-observateur est non significative (coefficient de corrélation de Pearson = 0.999 avec $p<0.001$). Un seuil de diagnostic positif à 132 a été établi grâce à l'indice de Youden. D'un point de vue qualitatif, parmi les patients atteints de mastocytose, on observe des morphologies nucléaires et des immunomarquages différents pour les mastocytoses à<77/mm2 et à>77/mm2.

Le comptage précis point par point, sur tablette, a permis de réduire les variabilités de quantification ainsi que l'établissement d'un seuil de diagnostic positif. La fluidité ainsi que les options d'agrandissement avec une grande surface d'analyse permet une description morphologique plus objective et plus exacte par rapport à la microscopie optique. Ceci laisse envisager une application future prometteuse.

Introduction

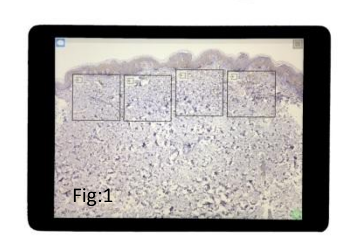
Les mastocytoses sont caractérisées par l'accumulation de mastocytes dans divers organes, principalement la peau et la moelle osseuse. Cliniquement, on distingue les formes cutanées pures (90%) et les formes systémiques (10%). Les formes cutanées, se manifestant souvent par un rash maculopapulaire, sont principalement décrites chez les enfants et ont un pronostic en général spontanément favorable. Chez les adultes, la mastocytose cutanée a tendance à progresser vers une mastocytose systémique, définie par l'atteinte d'au moins un autre organe que la peau (os, moelle osseuse…). Les symptômes sont causés par des médiateurs pro-inflammatoires libérés par les mastocytes (histamine, tryptase). Du point de vue génétique, il existe souvent une mutation activatrice au codon 816 de KIT (récepteur tyrosine kinase).

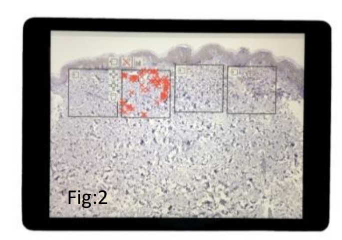
Histologiquement, les mastocytes sont des cellules arrondies, parfois fusiformes ou étoilées, centrées par un petit noyau sans nucléole visible, au cytoplasme éosinophile abondant comportant des granulations intracytoplasmiques colorables en rouge par le Giemsa. Ils sont observés dans la peau normale en petit nombre autour des vaisseaux du derme superficiel, des follicules pileux et des nerfs. Ce sont les seules cellules du derme exprimant le c-kit ou CD117. Sur une coupe histologique de peau, en microscopie optique, les mastocytes sont au nombre normal de 77/mm2 (régions proximales) jusqu'à 108,2/mm2 (régions distales). Certains signes indirects peuvent orienter vers une mastocytose tels que la présence d'éosinophiles,l'augmentation et dilatation du nombre des vaisseaux dans le derme superficiel ,la fibrose du derme superficiel ,l'hyperpigmentation de la couche basale de l'épiderme sus-jacent. Leur nombre augmente dans de nombreuses circonstances, notamment inflammatoires. Ainsi, le diagnostic de mastocytose ne peut être retenu qu'en cas de prédominance mastocytaires de l'infiltrat inflammatoire et de corrélation à la clinique.

Matériels et méthodes

65 cas correspondants à 72 biopsies cutanées, prises en région proximale, de mastocytoses au diagnostic clinique établi ainsi que 42 cas témoins ont été sélectionnées pour le comptage provenant de deux hôpitaux publiques. Toutes ces biopsies, colorées au HES ainsi que les lames correspondantes ayant une immunomarquage au CD117 ont été numérisées. Des cadres de lecture, au nombre de 4, correspondant à des surfaces de 0,025mm2 et dont la totalité fait 1 mm2(Fig:1) ont été posés par un premier pathologiste sur les lames d'immunohistochimie (IH). Ces cadres correspondent aux zones le plus densément cellulaires. La visualisation et le comptage ont été faits en deux temps par deux pathologistes différents à plus de trois semaines d'intervalles. Les cas témoins ont été vus par un seul pathologiste. Le comptage a été réalisé grâce à un pointage tactile (Fig:2) dont le nombre est directement enregistré par cadre dans un menu à part (Fig:3). D'autre part, une évaluation qualitative morphologique a été effectuée de façon simultanée par les deux observateurs avec un Template. Ce dernier prend en compte la morphologie cellulaire (arrondie et fusiforme), le type d'immunomarquage (membranaire et cytoplasmique), l'importance de la fibrose qui accompagne, l'infiltrat (absente, faible+, modérée ++ et sévère+++), la présence d'éosinophiles ainsi que la présence d'une augmentation du nombre et du calibre des vaisseaux du derme superficiel.

Un graphe contextuel de démarche diagnostique a également été établi en prenant en compte les différents arguments et signes morphologiques diagnostiques.(Fig:4)


Fig:1


Fig:2

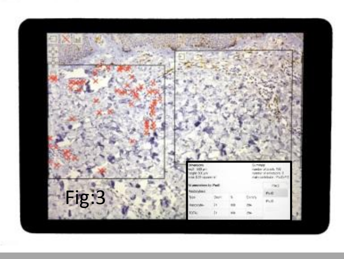

Fig:3


Fig:4

Résultats

La variabilité inter-observateur est non significative (coefficient de corrélation de Pearson = 0.999 avec $p<0.001$) et augmente avec le nombre de mastocytes. Pour des faibles valeurs de mastocytes la variabilité est très faible. Une différence significative est retrouvée entre les mastocytoses et les témoins. D'un point de vue qualitatif, parmi les patients atteints de mastocytose, on observe : une morphologie nucléaire allongée pour les mastocytoses à<77/mm2 (62,5%) et ou l'immunomarquage est surtout cytoplasmique (62,5%). Les mastocytoses à>77/mm2 ont l'une ou l'autre morphologie (70% allongée et 73% arrondie) accompagnée de la présence d'éosinophiles (14%) et d'une dilatation et augmentation du nombre des capillaires du derme superficiel (59%), la fibrose est majoritairement absente dans les mastocytoses à <77/mm2 (50%) et faible dans celles à >77/mm2 (38%). La morphologie arrondie, la dilatation et augmentation du nombre des capillaires du derme superficiel ainsi que l'immunomarquage membranaire constituent des arguments histologiques pour un diagnostic positif de mastocytose ($p<0,005$). Grace à l'indice de Youden un seuil de diagnostic positif a été établi avec une sensibilité de 82% et une spécificité à 100%.Ce seuil correspond à 132 mastocytes.

Discussion et conclusion

Les résultats obtenus par la double lecture sur tablette ainsi que la différence non significative calculée permettent de conclure à une fiabilité et une validation de cet outil dans l'évaluation morphologique des lésions. Le comptage précis point par point, sur tablette, a permis de réduire les variabilités de quantification et d'établir sur une série de 72 biopsies un seuil de positivité à 132 mastocytes. La fluidité ainsi que les options d'agrandissement avec une grande surface d'analyse permet une description morphologique plus objective et plus exacte par rapport à la microscopie optique. Ceci permet de conclure à une fiabilité de la méthode de mesure qui a permis l'établissement d'un seuil de positivité « diagnostique » avec notamment une forte reproductibilité, et laisse envisager une application future prometteuse.

Références

- Pathologie cutanée non tumorale,
  Bernard Cribier, Sylvie Fraitag, Isabelle Moulonguet-Michau,Janine Wechsler.
- Systemic mastocytosis involving - The gastrointetsinal tract: clinicopathologic and molecular study of five cases.
  R Kirsh,K Geboes,N A Shepherd, G de Hertogh,N Di Nicola,S Lebel, U Mickys, R H Riddell.
- www.hematocell.fr

Ki67 et cancer du sein pour la pratique clinique
Standardisation des examens IHC sur pièce opératoire et des comptes rendus
Recommandations 2014 du Grand-Est

C Egelé (1), MP Algros (2), L Arnould (3), C Barlier (4), E Brabencova (5), V Huriet (6), B Louis (7), E Luporsi (8), O Roujansky (9), F Tissier (10), P Touillon (9), N Weingertner (11), MP Wissler (1), JP Bellocq (1)

(1) AFAQAP, www.afaqap.fr
(2) Service d'ACP, CHU, 2 pl St-Jacques, 25000 Besançon, Fr
(3) Département d'ACP, CLCC, 1 r du Pr Marion, 21000 Dijon, Fr
(4) Service d'ACP, CLCC, 6 av de Bourgogne, 54519 Vandœuvre, Fr
(5) Service d'ACP, CLCC, 1 r du Gal Koenig, 51726 Reims, Fr
(6) Centre d'ACP E Gallé, 81 r JV Daubié, 54000 Nancy, Fr
(7) Centre d'ACP, 19 r de La Haye, 67014 Strasbourg, Fr
(8) Oncologie médicale, CLCC, 6 av de Bourgogne, 54519 Vandœuvre, Fr
(9) Conseillers scientifiques biomarqueurs Roche, Fr
(10) Service d'ACP, CHU, 47 bld de l'Hôpital, 75651 Paris, Fr
(11) Département d'ACP, CHU, 1 av Molière, 67098 Strasbourg, Fr

Résumé

Il a été décidé de ne pas focaliser l'interprétation sur les *hot spots* et de fournir un **index moyen**. L'appréciation de l'index par *eyeballing* (appuyée à l'œil) ou le comptage manuel (au microscope ou sur écran) ont été jugés satisfaisants à condition de s'aider, en cas d'hétérogénéité, d'un algorithme de calcul créé pour l'occasion et disponible sur Internet avec son mode d'emploi (www.afaqap.org/index-Ki67).

La formulation préconisée du compte rendu est la suivante : index Ki67 homogène / hétérogène ; ≤10% (#%) / dans la tranche 11-30% (#%) / >30% (#%). En cas d'hétérogénéité, l'index est une moyenne ; dans la tranche 11-30%, préciser la présence de zone occupant >30% de la surface tumorale à index >30%.

Introduction Ki67 est un **biomarqueur pertinent** pour la décision de chimiothérapie dans le cancer du sein RH+/HER2-, **à condition d'être rendu dans un cadre standardisé**.

L'indispensable démarche de standardisation doit prendre en compte **5 facteurs impactant la prise en charge clinique** : 1) la technique de révélation du signal IHC, 2) l'hétérogénéité intra-tumorale, 3) la méthode d'appréciation du % de cellules marquées, 4) la formulation du résultat, 5) le(s) seuil(s) de décision thérapeutique.

Après 3 campagnes d'évaluation externe de la qualité (EEQ), l'AFAQAP a pu identifier les techniques IHC optimales et **une cause majeure de variations inter-observateurs : la prise en compte excessive des zones de prolifération de très petite taille (*hot spots*).**

Objectif Devant l'insuffisance de recommandations nationales et internationales sur les facteurs 2 à 5 mentionnés, il est apparu opportun d'émettre des propositions issues d'une **réflexion multidisciplinaire inter-régionale** pour un **référentiel de pratique clinique du Grand-Est (GE).**

Méthodes Un groupe de 8 pathologistes, d'1 oncologue médical et de 2 observateurs externes, a pris en compte les données de la littérature, les bilans des EEQ de l'AFAQAP et l'expérience de chacun (avis d'experts).

Le résultat du travail a été présenté en réunion plénière inter-régionale des réseaux de cancérologie d'Alsace, Bourgogne, Champagne-Ardenne, Franche-Comté et Lorraine en avril 2014, puis soumis à un vote anonyme.



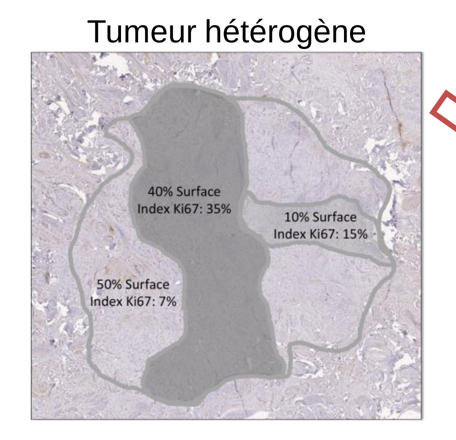
Un référentiel commun

Résultats Il a été décidé de **ne pas focaliser l'interprétation sur les *hot spots*** et de **fournir un index moyen**.

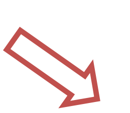
Le comptage automatisé n'étant pas à ce jour pleinement abouti, l'appréciation par ***eyeballing*** (appuyée à l'œil) ou **le comptage manuel** (au microscope ou sur écran) ont été jugés satisfaisants **à condition de s'aider, en cas d'hétérogénéité**, d'un algorithme de calcul créé pour l'occasion et disponible sur Internet avec son mode d'emploi (www.afaqap.org/index-Ki67).

Deux seuils de décision thérapeutique à 10% et 30% ont été retenus. Ils aboutissent à 3 tranches d'index, les tranches basse et haute invitant respectivement à une abstention ou une indication de chimiothérapie. La formulation recommandée du compte rendu ACP sur pièce opératoire a été la suivante : l'index Ki67 est homogène / hétérogène, estimé ≤10% (#%) / dans la tranche 11-30% (#%) / >30% (#%). En cas de marquage hétérogène, l'index moyen est fourni et, dans la tranche 11-30%, il est précisé la présence ou non de zone occupant >30% de la surface tumorale avec un index >30%.

Tumeur hétérogène



Quel est l'index moyen ?





Un outil web pour le calcul du %
en cas de tumeur hétérogène
http://www.afaqap.org/index-ki67/

3 niveaux d'index	Niveau d'index le plus faible	Niveau d'index intermédiaire	Niveau d'index le plus fort	Index Ki67 moyen
% surface du niveau d'index	50	10	40	
Index Ki67	7	15	35	**19.0**
Nb de cellules approximatif/unité de surface	1000	900	1000	

Discussion Ces propositions ont été retenues par 96% des 93 votants en réunion plénière, autorisant leur diffusion pour harmoniser les résultats et les pratiques dans le GE.

Hépatocholangiocarcinome à différenciation neuroendocrine : une entité exceptionnelle, paradigme du concept de cellule souche hépatique

B. Bonhomme[1], M. Bui[2], L. Cany[3], P. Cavagni[4], B. Le Bail[1], C. Castain[1]

[1]Service de Pathologie, Hôpital Pellegrin, CHU de Bordeaux - [2]Cabinet de Pathologie, Périgueux
[3]Service de cancérologie & [4]Service d'imagerie médicale, Polyclinique Francheville, Périgueux

RÉSUMÉ :

Nous présentons ici de façon rétrospective un cas de tumeur hépatique maligne de haut grade survenant chez une patiente de 52 ans sans antécédent. Cette dernière présente, en immunohistochimie, une triple différenciation neuroendocrine (chromogranine +, synaptophysine +), hépatocytaire (anti-hépatocyte +, TTF1 +) et biliaire (cytokératines 7 et 19 +). Nous avons donc proposé le d'une tumeur primitivement hépatique de type hépatocholangiocarcinome présentant une différenciation neuroendocrine. La présence d'une différenciation neuroendocrine au sein d'une tumeur hépatique doit faire éliminer en priorité une métastase. L'hépatocholangiocarcinome est une tumeur hépatique rare et le carcinome neuroendocrine primitivement hépatique reste une entité débattue. La présence d'une composante neuroendocrine dans ces tumeurs composites peut s'expliquer par : 1) la présence de cellules neuroendocrines tumorales au sein de la tumeur hépatocellulaire ou cholangiocarcinomateuse initiale 2) l'existence d'une transdifférenciation phénotypique des cellules tumorales initiales 3) la différenciation neuroendocrine d'une tumeur issue d'une cellule souche.
Plusieurs travaux suggèrent que les carcinomes hépatocellulaires peu différenciés proviendraient de cellules souches ou de cellules ovales (intermédiaires).
Ces hypothèses physiopathologiques expliqueraient la triple différenciation de notre tumeur hépatique.
A notre connaissance, il s'agit ici du premier cas d'hépatocholangiocarcinome à différenciation neuroendocrine rapporté, illustrant la remarquable plasticité phénotypique des cellules tumorales et corroborant l'hypothèse de la possible genèse de certaines tumeurs primitives hépatiques à partir de cellules souches progénitrices multipotentes.

INTRODUCTION :

Nous décrivons ici une **tumeur hépatique maligne présentant une triple différenciation neuroendocrine, hépatocytaire et biliaire**. L'expression conjointe de ces marqueurs au sein d'une même tumeur est étonnante et pose des questions quant à l'origine de ce carcinome hépatique.

OBJECTIF :

Rapporter un cas d'hépatocholangiocarcinome à différenciation neuroendocrine, entité encore jamais décrite.

METHODE :

Etude rétrospective à propos d'un cas unique et didactique.

CAS CLINIQUE :

Une patiente de 52 ans sans antécédent présente une tumeur hépatique du segment IV, nécrotique, associée à une thrombose portale. La biopsie de cette lésion retrouve au sein d'un foie non cirrhotique un carcinome peu différencié de haut grade, d'architecture massive mais ébauchant des aspects glandulaires en rosettes avec une focale mucosécrétion.
Les cellules tumorales expriment une triple différenciation :

• *hépatocellulaire* avec l'expression de l'anti-hépatocyte (spécificité 80-90%) et du TTF1 (cytoplasmique granuleux) ;
• *biliaire* avec l'expression forte de la cytokératine 19 et celle plus focale de la cytokératine 7 (la cytokératine 20 était négative) ;
• *neuroendocrine* avec l'expression franche de la chromogranine A et celle, plus focale, de la synaptophysine.

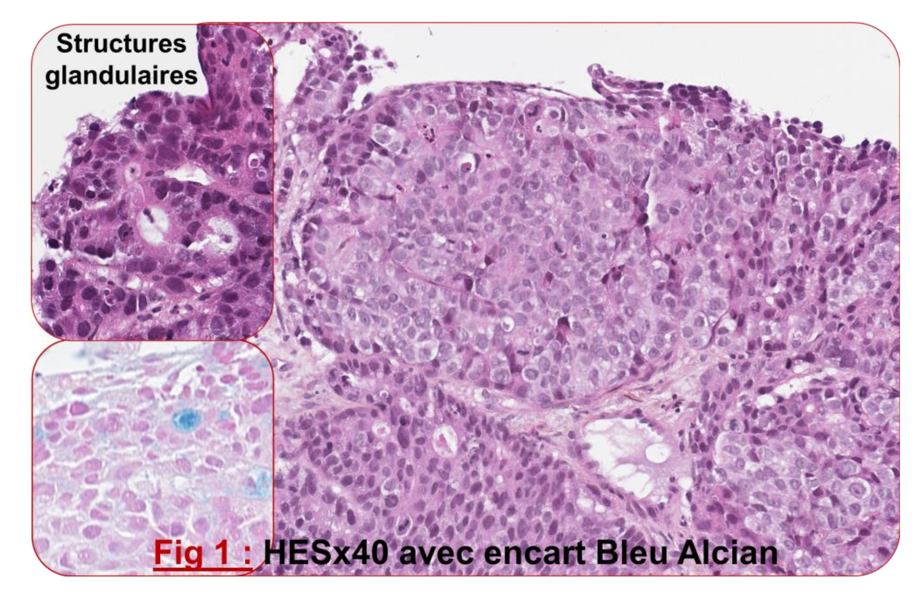
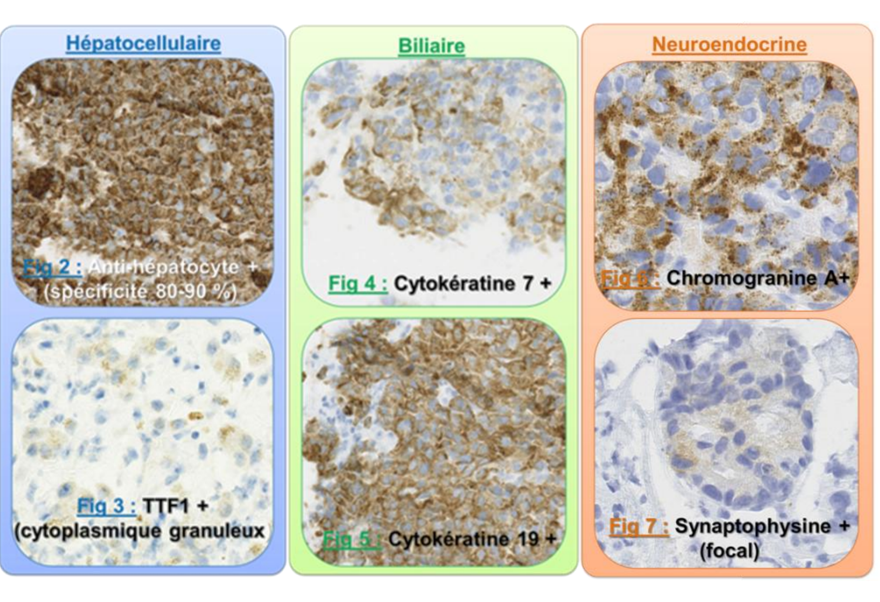


Fig 1 : HESx40 avec encart Bleu Alcian



Au total, il s'agit d'une tumeur primitivement hépatique de type hépatocholangiocarcinome présentant une différenciation neuroendocrine.

DISCUSSION :

• La présence d'une différenciation neuroendocrine au sein d'une tumeur hépatique doit faire éliminer en priorité une métastase.
• L'hépatocholangiocarcinome est une tumeur hépatique rare (< 1% des carcinomes hépatiques primitifs) constituée de deux populations (hépatocellulaire et cholangiocarcinomateuse) entremêlées. Le carcinome neuroendocrine primitivement hépatique reste une entité débattue. Plusieurs cas de carcinomes hépatocellulaires composites à différenciation neuroendocrine ont été rapportés ainsi que d'exceptionnels cholangiocarcinomes avec inflexion neuroendocrine.
• La présence d'une composante neuroendocrine dans ces tumeurs composites peut s'expliquer par :

1) la présence de cellules neuroendocrines tumorales au sein de la tumeur hépatocellulaire ou cholangiocarcinomateuse initiale
2) l'existence d'une transdifférenciation phénotypique des cellules tumorales initiales
3) la différenciation neuroendocrine d'une tumeur issue d'une cellule souche.

• Plusieurs travaux suggèrent que les carcinomes hépatocellulaires peu différenciés proviendraient de cellules souches ou de cellules ovales (intermédiaires). Il n'existe pas de marqueurs absolument spécifiques des cellules souches hépatiques. Certains auteurs rapportent que la chromogranine-A pourrait être un marqueur de ces cellules progénitrices hépatiques. De plus, les hépatoblastes humains co-exprimeraient la cytokératine 19 et l'anti-hépatocyte HepPar1. Ces hypothèses physiopathologiques expliqueraient la triple différenciation de notre tumeur hépatique.
• Le traitement de ces tumeurs n'est pas codifié compte tenu du peu de cas rapportés. Cependant, du fait de leur différenciation neuroendocrine, ces tumeurs semblent agressives et de plus mauvais pronostic.

CONCLUSION :

A notre connaissance, il s'agit ici du premier cas d'hépatocholangiocarcinome à différenciation neuroendocrine rapporté, illustrant la remarquable plasticité phénotypique des cellules tumorales et corroborant l'hypothèse de la possible genèse de certaines tumeurs primitives hépatiques à partir de cellules souches progénitrices multipotentes.

RÉFÉRENCES :

1. Wang JH, Dhillon AP, Sankey EA, Wightman AK, Lewin JF, Scheuer PJ. 'Neuroendocrine' differentiation in primary neoplasms of the liver. *J Pathol.* 1991;163(1):61-7.
2. Zhao M, Laissue JA, Zimmermann A. "Neuroendocrine" differentiation in hepatocellular carcinomas (HCCs): immunohistochemical reactivity is related to distinct tumor cell types, but not to tumor grade. *Histol Histopathol.* 1993;8(4):617-26.
3. Hidaka H, Kuwao S, Kokubu S, Yanagimoto K, Satomichi A, Takada M, Nakazawa T, Saigenji K. Mixed carcinoid-adenocarcinoma of the liver. *Intern Med.* 2000;39(11):910-3.
4. Ishida M, Seki K, Tatsuzawa A, Katayama K, Hirose K, Azuma T, Imamura Y, Abraham A, Yamaguchi A. Primary hepatic neuroendocrine carcinoma coexisting with hepatocellular carcinoma in hepatitis C liver cirrhosis: report of a case. *Surg Today.* 2003; 33(3):214-8.
5. Kaya G, Pasche C, Osterheld MC, Chaubert P, Fontolliet C. Primary neuroendocrine carcinoma of the liver: an autopsy case. *Pathol Int.* 2001,51(11):874-8.
6. Alison MR, Lovell MJ. Liver cancer: the role of stem cells. *Cell Prolif. 2005*;38(6):407-21.
7. Roskams T, De Vos R, Desmet V. 'Undifferentiated progenitor cells' in focal nodular hyperplasia of the liver. *Histopathology. 1996*;28(4):291-9.
8. Haruna Y, Saito K, Spaulding S, Nalesnik MA, Gerber MA. Identification of bipotential progenitor cells in human liver development. *Hepatology.* 1996;23(3):476-81.

Impact pronostique de l'expression de l'E-cadhérine dans les tumeurs urothéliales superficielles de la vessie

S Mejri (1), D Ben Ghachem(1), O Hemissi(1), A dhaoui(1), W Ajjouli(1), R boulma(2), H khouni (2), K Bellil(1)
(1) Service d'anatomie et de cytologie pathologiques, Hôpital des FSI, La Marsa, Tunis, Tunisie
(2) Service d'urologie, Hôpital des FSI, La Marsa, Tunis, Tunisie

Résumé

Introduction: L'évolution des tumeurs vésicales non infiltrant le muscle (TVNIM) est imprévisible avec un risque de récidive et de progression très variable. Les facteurs pronostiques classiques sont endoscopiques et histopathologiques, néanmoins ils sont insuffisants, d'où l'intérêt porté actuellement aux marqueurs moléculaires. L'E-cadhérine est une molécule d'adhésion inter-cellulaire, intervenant dans la transition épithélio-mésenchymateuse (TEM), elle contribuerait à prédire le potentiel évolutif des TVNIM.

Objectifs: Etudier l'immunomarquage de l'E-cadhérine dans les TVNIM et le corréler à la récidive et à la progression

Méthodes : Une série de 40 patients présentant une TVNIM réséquée endoscopiquement entre les années 2008 et 2013 a été colligée. Nous avons étudié l'immunomarquage de l'E-cadhérine. Le test chi-deux a été utilisé pour rechercher une corrélation entre l'E-cadhérine et la récidive puis la progression. Une étude de la survie sans récidive (SSR) et de la survie sans progression (SSP) a été réalisée par la méthode Kaplan Meier.

Résultats: 35% des tumeurs ont récidivé. Aucun marquage par l'E-cadhérine n'était noté dans ces tumeurs. 73% des tumeurs qui n'ont pas récidivé exprimaient l'E-cadhérine. L'expression de l'E-cadhérine était inversement corrélée à la récidive (p=0.00000, Pearson index=-0.698). Elle était corrélée à la SSR (p=0.00000001). 12% des tumeurs ont progressé, et aucune n'exprimait l'E-cadhérine. 54.28% des tumeurs n'ayant pas progressé exprimaient l'E-cadhérine. L'expression de l'E-cadhérine était inversement corrélée à la progression (p=0.01, Pearson index=-0.4). Elle était corrélée à la SSP (p=0.01).

Discussion: La perte ou la diminution de l'expression de l'E-cadhérine est une étape clé dans la TEM. Elle est corrélée à la récidive, à la SSR, à la progression et à la SSP dans les TVNIM. Sa négativité pourrait indiquer chez le malade une surveillance plus étroite et/ou un traitement plus agressif.

Conclusion: Notre étude a montré une association entre l'expression de l'E-cadhérine dans les TVNIM et leur évolution. Ce marqueur permettrait en association aux facteurs pronostiques classiques de mieux définir des sous groupes à haut risque de récidive et de progression.

Introduction

Les tumeurs vésicales superficielles, dénommées également tumeurs vésicales non infiltrant le muscle (TVNIM), représentent 70 à 80% de l'ensemble des tumeurs de la vessie. Elles se caractérisent par un potentiel évolutif imprévisible et très variable avec des récidives dans 40% à 70% des cas et une progression vers des formes envahissantes (pT2-pT4) dans 10 à 20% des cas. Les facteurs pronostiques classiques sont endoscopiques et histopathologiques, néanmoins ils sont insuffisants, d'où l'intérêt porté actuellement aux marqueurs moléculaires. L'E-cadhérine est une molécule d'adhésion inter-cellulaire, intervenant dans la transition épithélio-mésenchymateuse (TEM), elle contribuerait à prédire le potentiel évolutif des TVNIM.

Le but de notre travail était d'analyser l'expression immunohistochimique de la E-cadhérine et de corréler cette expression au risque de récidive et de progression des TVNIM.

Matériel et méthodes :

Une série de 40 patients présentant une TVNIM réséquée endoscopiquement entre les années 2008 et 2013 a été colligée.

Critères d'inclusion: tous les cas de TVNIM découverte lors d'une première résection transurétérale de la vessie, ayant une période de suivi de plus de 3 mois.

L'immunomarquage a été apprécié qualitativement en étudiant sa topographie.

- Le marquage était considéré comme positif lorsqu'il était membranaire, intéressant toute la hauteur épithéliale ou les 2/3 supérieurs de la hauteur épithéliale.
- Il était considéré comme négatif lorsqu'il n'était pas membranaire, ou lorsque le marquage n'intéressait que le tiers supérieur de la hauteur épithéliale ou les cellules superficielles seules.

Le test chi-deux a été utilisé pour rechercher une corrélation entre l'E-cadhérine et la récidive puis la progression. Une étude de la survie sans récidive (SSR) et de la survie sans progression (SSP) a été réalisée par la méthode Kaplan Meier.

Résultats :

- 70% des cas étaient classés pTa et 30% classés pT1. 65% des TVNIM étaient de bas grade et 35% étaient de haut grade. Le suivi moyen était de 19 mois avec un minimum de 6 mois et un maximum de 64 mois.
- La récidive tumorale a été relevée chez 35% des patients. Aucun marquage par l'E-cadhérine n'était noté dans ces tumeurs. 73% des tumeurs qui n'ont pas récidivé exprimaient l'E-cadhérine. L'expression de l'E-cadhérine était inversement corrélée à la récidive (p=0.00000, Pearson index=-0.698). Elle était corrélée à la SSR (p=0.00000001).
- La progression tumorale a été notée dans 12% des tumeurs. Aucune n'exprimait l'E-cadhérine. 54.28% des tumeurs n'ayant pas progressé exprimaient l'E-cadhérine. L'expression de l'E-cadhérine était inversement corrélée à la progression (p=0.01, Pearson index=-0.4). Elle était corrélée à la SSP (p=0.01).

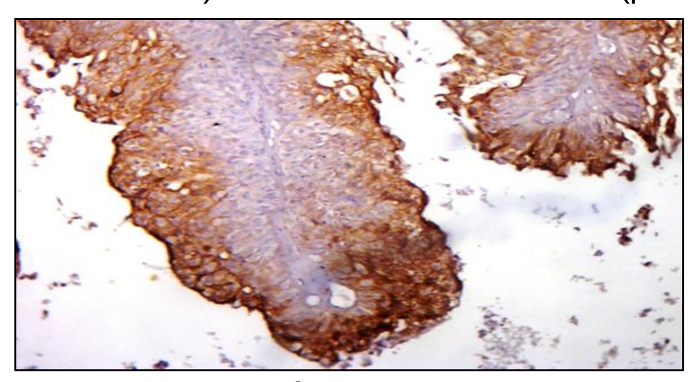


Figure1

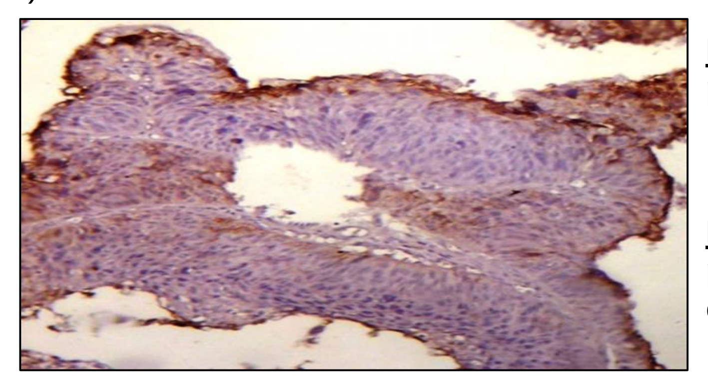


Figure2

Figure1: Immunomarquage positif de la E-cadhérine dans les cellules du 2/3 supérieurs de la hauteur épithéliale

Figure2: Immunomarquage positif de la E-cadhérine dans les cellules superficielles

Discussion et conclusion :

La perte ou la diminution de l'expression de l'E-cadhérine est une étape clé dans la TEM. Sa corrélation avec la récidive, la SSR, la progression et la SSP dans les TVNIM est controversée et varie d'une étude à l'autre. Notre série a mis en évidence la valeur pronostique de l'E-cadhérine dans les TVNIM. Ce marqueur permettrait en association aux facteurs pronostiques classiques de mieux définir des sous groupes à haut risque de récidive et de progression. Ainsi, sa négativité pourrait indiquer un traitement plus agressif et/ou une surveillance plus étroite.

Références :

[1] Ben Abdelkrim S. Rammeh S. Trabelsi A. Ben Yacoub Abid L. Anjorin A. Bdioui A. Jaïdane L.Mokni M. Expression of E-cadherin and β-cateninin pTa/pT1 transitional cell carcinoma of the bladder Journal Africain du Cancer . November 2011, Issue 4, 217-221 .

[2] Khorrami M H, Hadi M, Gharaati M R, Izadpanahi M H, Javid A, Zargham M. E-Cadherin Expression as a Prognostic Factor in Transitional Cell Carcinoma of the Bladder After Transurethral Resection. Urologie jounal. 2012 ; 581.

[3] Mhawech-Fauceglia P, Fischer G, Beck A, et al. Raf1, Aurora-A/STK15 and E-cadherin biomarkers expression in patients with pTa/pT1 urothelial bladder carcinoma; a retrospective TMA study of 246 patients with long-term follow-up. European journal of surgical oncology . 2006;32:439-44.

Principaux marqueurs histologiques et moléculaires des tumeurs gliales

N Senhaji(1), S Louati(1), S El Bardai(2), K Mikou(1), S Bennis(2,3).

(1) Laboratoire des molécules bioactives : structure et fonctions. Faculté des Sciences et Techniques de Fès.
(2) Service d'anatomie pathologique et de pathologie moléculaire. Centre hospitalier universitaire Hassan II de Fès.
(3) Laboratoire de biologie moléculaire et cellulaire. Faculté de médecine et de pharmacie de Fès.

Résumé :

Les nouvelles technologies moléculaires ont permis une meilleure classification des gliomes basée sur l'altération de gènes spécifiques pour chaque sous-type de tumeur. Ces marqueurs moléculaires sont nécessaires pour la différenciation précise et objective et par conséquent pour une thérapie plus ciblée et une meilleure prise en charge thérapeutique.
Le but de cette étude est d'évaluer la présence et la fréquence de certains biomarqueurs génétiques dans les gliomes.

Introduction :

L'incidence annuelle de gliomes est estimée à 5-6 cas pour 100000. Le diagnostic repose principalement sur la classification de l'OMS 2007, qui souffre d'un manque de précision et de reproductibilité. Aujourd'hui, la recherche d'altérations génétiques dans les gliomes montre un rôle potentiel dans le diagnostic, le pronostic et la réponse au traitement.

Matériel et méthodes :

- Il s'agit d'une étude rétrospective étalée sur une période de 4ans entre Janvier 2010 et Décembre 2013. 99 tumeurs ont été incluses dans cette étude. Elles ont été obtenues à partir de patients diagnostiqués avec un gliome au centre hospitalier universitaire Hassan II de Fès.
- L'immunohistochimie a été réalisée en utilisant un panel d'anticorps. Certains d'entre eux nous ont aidé à poser le diagnostic (GFAP, Ki67, P53, Olig2…) alors que d'autres (anti R132H IDH1, INA) ont été utilisés comme marqueur de substitution d'altérations moléculaires connues dans les gliomes.
- L'ADN a été extrait pour analyses moléculaires. L'identification des amplifications des gènes EGFR et MDM2 a été réalisée à l'aide des techniques de Q-PCR, alors que les mutations IDH1 et IDH2 ainsi que la mutation V600E du gène BRAF ont été révélées par les techniques de séquençage classique.

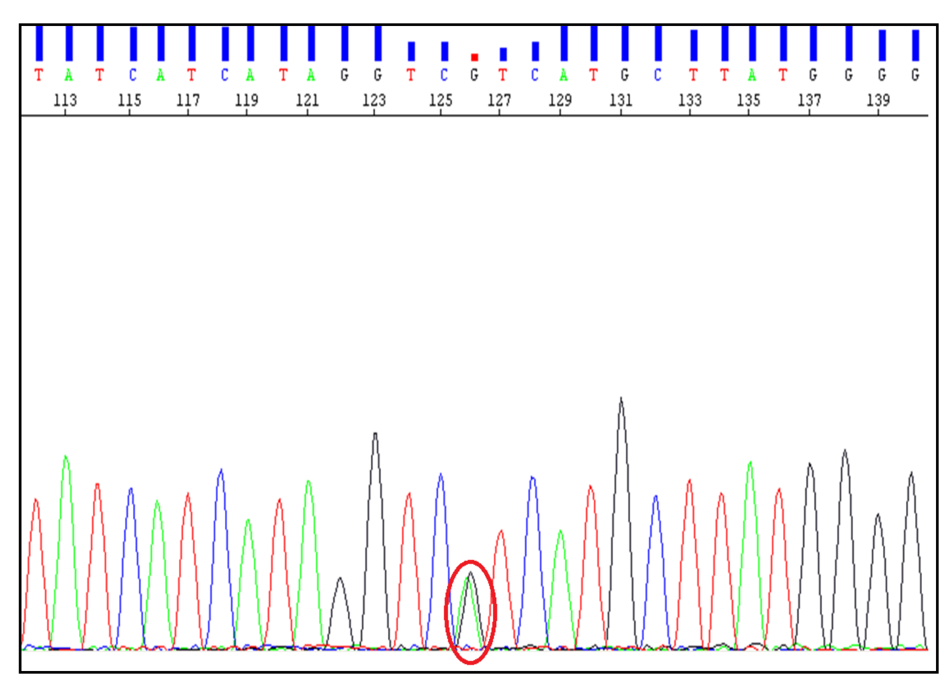


Figure 1 : Séquence IDH1 mutée d'un glioblastome.

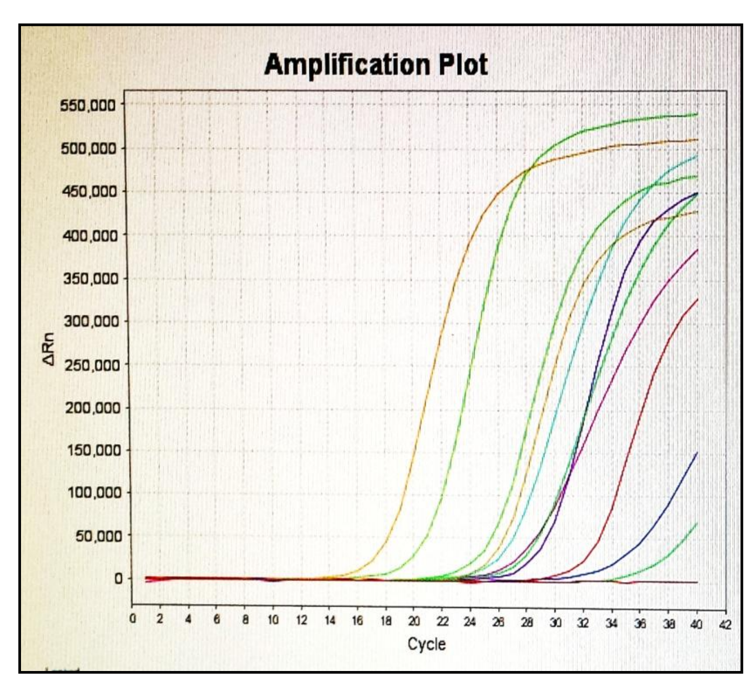


Figure 2 : Profile d'amplifications MDM2 par Q-PCR

Résultats :

- 99 patients ont été recensés et répartis selon les critères de l'OMS 2007. L'âge médian est de 32ans avec des extrêmes de 2 et 90 ans. 57% des patients sont de sexe masculin et 43% de sexe féminin. 46.5% des tumeurs gliales sont des glioblastomes.
- L'immunomarquage de l'INA, fortement corrélé à la présence de codélétion 1p19q, a été positif dans 11 des 15 patients présentant un oligodendrogliome.
- Nous avons identifié la mutation IDH1 dans 43 cas tandis que la mutation IDH2 n'a été détectée que dans un seul cas d'oligodendrogliome anaplasique.
- La mutation V600E du gène BRAF n'a pas été identifiée dans les 15 cas d'astrocytomes pilocytiques, cependant une insertion d'un TAC en position 1798 a été notée chez un seul patient.
- La détection de l'amplification des gènes EGFR / MDM2 réalisée avec des techniques de Q-PCR est toujours en cours avec la mise en évidence de 10 cas d'amplifications jusqu'à présent.

Discussion et conclusion :

- L'amplification des gènes EGFR et MDM2 est une caractéristique génétique de glioblastomes primaires.
- Les altérations génétiques les plus courantes des astrocytomes et oligodendrogliomes diffus ainsi que des glioblastomes secondaires sont les mutations TP53 et la co-délétion 1p / 19q. Cependant, les mutations des gènes IDH reste la signature génétique la plus précoce et la plus importante de ces tumeurs.
- Cette étude a mis l'accent sur la présence et la fréquence de certains de ces marqueurs.
- Dans un grand nombre d'études, les mutations IDH1 sont fréquentes dans les glioblastomes secondaires (63,4%), mais sont plus rares dans les glioblastomes primaires (7.13%). Les mutations IDH2 sont généralement présentes avec un très faible pourcentage (1,5%). Nos résultats et ceux d'autres études sont sensiblement concordants.
- L'amplification du gène MDM2 se produit dans moins de 10% des glioblastomes. Nos résultats étaient significativement plus élevés que ceux de la littérature. Ceci est principalement dû au faible nombre de cas réalisés à ce jour. Nous nous attendons à des résultats plus cohérents après l'intégration des 30 tumeurs restantes.

Références :

M. J. Riemenschneider et al. Molecular diagnostics of gliomas: state of the art. Acta Neuropathol (2010) 120:567–584.
Zou P, Xu H, Chen P, Yan Q, Zhao L, et al. (2013) IDH1/IDH2 Mutations Define the Prognosis and Molecular Profiles of Patients with Gliomas: A Meta-Analysis. PLoS ONE 8(7): e68782. doi:10.1371/journal.pone.0068782
Hiriko Ohgaki and Paul Kleihues. (2013). The definition of primary and secondary glioblastoma. Clinical Cancer Research 2013; 764-772.